



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2024-0020308  
 (43) 공개일자 2024년02월15일

- |  |   |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/> <i>C12N 1/20</i> (2006.01) <i>A01N 63/20</i> (2020.01)<br/> <i>A01P 21/00</i> (2006.01) <i>A01P 5/00</i> (2006.01)<br/> <i>C12R 1/01</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/> <i>C12N 1/205</i> (2021.05)<br/> <i>A01N 63/20</i> (2022.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-0096930<br/>             (22) 출원일자 2022년08월03일<br/>             심사청구일자 2022년08월03일</p> | <p>(71) 출원인<br/> <b>한국생명공학연구원</b><br/>             대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동)</p> <p>(72) 발명자<br/> <b>손광희</b><br/>             대전광역시 유성구 과학로 125<br/> <b>김중훈</b><br/>             대전광역시 유성구 과학로 125<br/>             (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/> <b>특허법인한얼</b></p> |
|--|---|

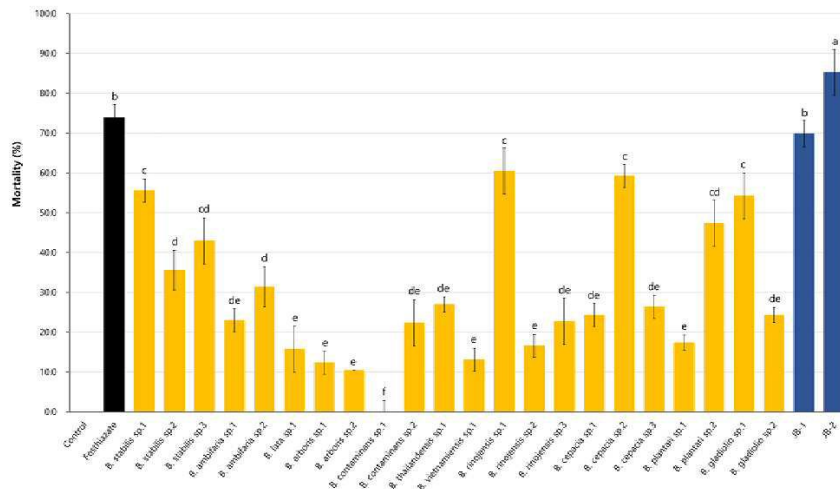
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **살선충 활성을 갖는 신규한 버크홀데리아 속 균주 및 이의 용도**

**(57) 요약**

발명은 살선충 활성을 갖는 토양 유래 신규한 버크홀데리아 속 균주; 상기 균주, 이의 파쇄물, 이의 추출물, 이의 배양물, 상기 배양물의 농축액, 상기 배양물의 건조물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는 기생 선충 방제용 조성물 또는 식물 성장 촉진용 미생물 제제; 기생 선충 방제 방법에 관한 것으로, 살선충 미생물 방제제에 대한 개발 및 생산에 있어 유용하게 활용되어, 친환경 농업의 구현뿐만 아니라, 농작물의 농약 잔류 및 토양 오염을 경감시켜 환경 보전에 기여할 수 있다.

**대표도 - 도3**



(52) CPC특허분류

*A01P 21/00* (2021.08)

*A01P 5/00* (2021.08)

*C12R 2001/01* (2021.05)

(72) 발명자

**강민경**

대전광역시 유성구 과학로 125

**박동진**

대전광역시 유성구 과학로 125

**이병민**

대전광역시 유성구 과학로 125

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1545025146
과제번호	321110042SB010
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림식품기술기획평가원
연구사업명	작물바이러스 및 병해충대응산업화기술개발사업
연구과제명	미생물 기반 유해 토양선충 방제 제반기술 개발 및 실증연구
기여율	90/100
과제수행기관명	한국생명공학연구원
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711159091
과제번호	2021M3A9I5023254
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	원천기술개발사업(바이오의료기술)
연구과제명	유해선충제어 바이오소재 생산 세포공장 고도화 기술 개발
기여율	10/100
과제수행기관명	한국생명공학연구원
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.12.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

기탁번호 KCTC14975BP로 기탁된 버크홀데리아 JB-1 (*Burkholderia* JB-1) 균주 또는 기탁번호 KCTC14976BP로 기탁된 버크홀데리아 JB-2 (*Burkholderia* JB-2) 균주.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 균주는 살선충 활성을 갖는 것인, 균주.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 균주는 성장 촉진 활성을 갖는 것인, 균주.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 균주는 키틴 및 단백질 분해 활성을 갖는 것인, 균주.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 균주, 상기 균주의 파쇄물, 상기 균주의 추출물, 상기 균주의 배양물, 상기 배양물의 농축액 및 상기 배양물의 건조물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는, 기생 선충 방제용 조성물.

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 기생 선충은 고구마 뿌리혹선충(*Meloidogyne incognita*), 땅콩 뿌리혹선충 (*M. arenaria*), 당근 뿌리혹선충 (*M. hapla*), 자바니카 뿌리혹선충(*M. javanica*), 잎선충류(*Aphelenchodies*), 줄기 선충류(*Ditylenchus*), 씨스트선충(*Globodera*, *Heterodera*), 뿌리썩이선충류(*Pratylenchus*), 궁침선충류(*Trichodorus*) 및 검선충류(*Xiphinema*)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 선충인, 기생 선충 방제용 조성물.

#### 청구항 7

제5항의 기생 선충 방제용 조성물을 식물체 또는 기생 선충에 처리하는 단계를 포함하는, 기생 선충 방제 방법.

#### 청구항 8

제7항에 있어서, 상기 방법은 상기 조성물을 식물의 종자, 잎, 줄기, 뿌리 또는 이에 근접한 토양에 직접 살포 하거나 침지시키는 것을 특징으로 하는, 기생 선충 방제 방법.

#### 청구항 9

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 균주, 상기 균주의 파쇄물, 상기 균주의 추출물, 상기 균주의 배양물, 상기 배양물의 농축액 및 상기 배양물의 건조물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 식물 성장 촉진용 조성물.

### 청구항 10

제5항 또는 제9항의 조성물을 포함하는 미생물 제제.

### 청구항 11

제10항의 조성물을 식물의 종자, 잎, 줄기, 뿌리 또는 이에 근접한 토양에 직접 살포하거나 침지시키는 것을 포함하는, 식물 성장 촉진하는 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 살선충 활성을 갖는 토양 유래 신규한 버크홀데리아 속 균주; 상기 균주, 이의 파쇄물, 이의 추출물, 이의 배양물, 상기 배양물의 농축액, 상기 배양물의 건조물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는 기생 선충 방제용 조성물 또는 식물 성장 촉진용 조성물; 미생물 제제; 기생 선충 방제 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0003] 선충(Nematode)은 동식물, 바닷물, 민물, 토양 속에서 생활하면서 동물이나 식물에 기생하기도 한다. 식물에 기생하는 선충은 수백여 종에 이르며 주로 토양, 잎, 줄기, 열매를 통해 침입한다. 침입한 기생 선충은 식물의 양분을 탈취하여 직접피해를 주거나 곰팡이, 세균 등 다른 병원체의 침입을 조장하여 간접피해를 일으킨다.

[0004] 대표적인 선충인 뿌리혹선충 (Meloidogyne sp.)은 광범위한 작물에 심각한 피해를 입히는 식물 기생성 선충이다. 특히, 고구마 뿌리혹선충 (Meloidogyne incognita), 땅콩 뿌리혹선충 (M. arenaria), 당근 뿌리혹선충 (M. hapla) 및 자바니카 뿌리혹선충(M. javanica)은 전세계 농업지대에 널리 분포하며 경제적으로 심각한 피해를 끼치는 고 있는 중요한 해충이며 550여종의 식물이 기주로 기록되어있다. 뿌리혹선충은 2령 유충 시기에 식물의 뿌리 성장점 근처로 침입하여 식물의 뿌리 내에서 기생하면서 성장하고, 이 과정에서 선충이 분비하는 호르몬의 작용으로 식물의 뿌리가 혹 모양으로 변형된다. 이에 따른 양분의 불균형으로 식물의 영양실조 및 뿌리의 양분과 수분 흡수능력이 저하되어 식물의 성장 및 생육을 직간접적으로 방해하게 되며 경제적 손실을 일으킨다. 이러한 식물 기생 선충으로 인한 피해규모는 세계 농업생산력 년 12% 감소로 이어지며, 피해액은 약 1,300억 달러로 추정된다. 또한, 뿌리혹선충은 식물에 직접적인 피해를 줄 뿐만 아니라, 다른 식물 기생 선충 및 다른 병원균과 상호 작용하여 질병 복합체를 형성하여 추가적인 피해를 일으킨다.

[0005] 이러한 선충을 방제하기 위한 대표적인 예로 메틸브로마이드와 같은 여러 훈증제와 선충탄(Fosthiazate)와 같은 여러 높은 독성의 화학 살선충제가 주로 사용되어 왔다. 하지만 화학 살선충제의 독성에 따른 생태계 영향 및 환경 잔류성 등의 부담으로 인하여 뿌리혹선충의 예방 및 방제를 위한 새로운 환경친화적인 생물학적 방제제의 개발이 점점 더 중요해지고 있다. 이에 따라 최근 환경 친화적인 생물학적 방제제를 개발하려는 연구가 전 세계적으로 활발하게 진행되고 있으며, 기술적 돌파 필요성이 요구되고 있는 실정이다. 최근 몇 년 동안, 해외 각국에서는 생물학적 방제제에 대한 연구가 지속되고 있으나 (일본 공개특허 제 2015-551526호), 국내의 경우, 현재 다수의 제품이 화학 살선충제로 이루어져 있으며 효율적으로 선충을 방제할 수 있는 미생물 제제는 거의 없는 실정이다.

[0006] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 살선충 활성이 높고 작물 생육 촉진능이 우수한 생물학적 방제제에 관한 연구를 수행하였으며, 토양으로부터 분리한 신규한 버크홀데리아 속 균주는 살선충 효과가 있을 뿐만 아니라, 작물 생육 촉진 효과가 현저히 우수함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 하나의 목적은 기탁번호 KCTC14975BP로 기탁된 버크홀데리아 JB-1 (*Burkholderia* JB-1) 균주 또는 기탁번호 KCTC14976BP로 기탁된 버크홀데리아 JB-2 (*Burkholderia* JB-2) 균주를 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 균주, 상기 균주의 파쇄물, 상기 균주의 추출물, 상기 균주의 배양물, 상기 배양물의 농축액 및 상기 배양물의 건조물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는, 기생 선충 방제용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 기생 선충 방제용 조성물을 식물체 또는 기생 선충에 처리하는 단계를 포함하는, 기생 선충 방제 방법을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 균주, 상기 균주의 파쇄물, 상기 균주의 추출물, 상기 균주의 배양물, 상기 배양물의 농축액 및 상기 배양물의 건조물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 식물 성장 촉진용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 기생 선충 방제용 또는 식물 성장 촉진용 조성물을 포함하는 미생물제제를 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 식물 성장 촉진용 조성물을 식물의 종자, 잎, 줄기, 뿌리 또는 이에 근접한 토양에 직접 살포하거나 침지시키는 것을 포함하는, 식물 성장 촉진하는 방법을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

- [0015] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 발명에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 위하여 본 발명의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.
- [0017] 본 발명의 하나의 양태는 기탁번호 KCTC14975BP로 기탁된 버크홀데리아 JB-1 (*Burkholderia* JB-1) 균주 또는 기탁번호 KCTC14976BP로 기탁된 버크홀데리아 JB-2 (*Burkholderia* JB-2) 균주를 제공한다.
- [0018] 상기 균주는 살선충 활성, 성장 촉진 활성, 키틴 및 단백질 분해 활성을 갖는다.
- [0019]
- [0020] 본 발명의 용어, "*버크홀데리아* (*Burkholderia*)"는 버크홀데리아과 (*Burkholderiaceae*)의 그람 음성, 산소성의 세균 속에 속한다. 버크홀데리아 종은 발견되는 서식지가 토양부터 사람의 호흡기까지 매우 다양하며, 일부 종은 잠재적 병원성을 지니고 있다. 본 발명의 버크홀데리아는 밭 토양 또는 산림 토양에서 유래한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0022] 본 발명의 "살선충 활성"은 선충을 죽이는 효과를 가지고 있는 활성을 의미하며, 식물체가 성장하는 토양에서 선충의 밀도의 감소와 상기 선충의 알 부화를 억제시키는 효과뿐만 아니라, 피해 식물체에 발생하는 혹과 난낭의 개수가 감소하는 효과를 의미한다.
- [0023] 본 발명에서 선충은 고구마 뿌리혹선충(*Meloidogyne incognita*), 땅콩 뿌리혹선충 (*M. arenaria*), 당근 뿌리혹선충 (*M. hapla*), 자바니카 뿌리혹선충(*M. javanica*), 잎선충류(*Aphelenchodites*), 줄기선충류(*Ditylenchus*), 씨스트선충(*Globodera*, *Heterodera*), 뿌리썩이선충류(*Pratylenchus*), 궁침선충류(*Trichodorus*), 검선충류(*Xiphinema*) 또는 상기 선충의 알 일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0024] 본 발명의 균주는 살선충 활성뿐만 아니라, 토양 및 식물체와 연관된 해충인 곰팡이, 박테리아, 곤충, 거미류, 선충, 민달팽이, 달팽이 등 및 이들 해충의 알 또는 유충, 농작물, 자연환경의 토양 해충 및 이들의 알 및 유충에 대한 살충, 살연체동물, 살균 또는 살박테리아 등의 활성을 가질 수 있다. 구체적으로, 이집트숲모기(*Aedes aegypti*), 흰줄숲모기(*Aedes albopictus*), 빨간집모기(*Culex pipiens*), 작은뿌리파리(*Bradysia agrestis*), 파밤

나방(*Spodoptera exigua*), 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 담배거세 미나방(*Spodoptera litura*), 미국흰불나방(*Hyphantria cunea*), 왕담배나방(*Helicoverpa armigera*), 화랑곡나방 (*Plodia interpunctella*), 이화명나방(*Chilo suppressalis*), 흑명나방(*Cnaphalocrocis medinalis*), 옥수수조명나방(*Ostrinia furnacalis*), 톱다리개미허리노린재(*Riptortus clavatus*), 벼물바구미(*Lissorhoptrus oryzophilus*), 벼멸구(*Nilaparvata lugens*), 애멸구(*Laodelphax striatellus*), 목화진딧물(*Aphis gossypii*), 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*), 오이총채벌레(*Thrips palmi*), 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis*), 담배가루이(*Bemisia tabaci*) 등 유충호르몬이 존재하는 절지동물 또는 상기 해충의 알 또는 유충에 대한 살충, 살연체동물, 살균 또는 살박테리아 활성일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기와 같은 살선충, 살충, 살연체동물, 살균, 살박테리아 등의 활성을 바탕으로 본 발명의 JB-1 또는 JB-2 균주는 식물병 방제 효과를 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0025] 본 발명의 살선충 활성을 확인할 수 있는 식물은 식물의 전체, 뿌리, 줄기, 잎, 및 종자와 같은 식물의 일부, 식물체의 세포 또는 조직일 수 있다. 그 예로, 곡물(밀, 보리, 호밀, 귀리, 쌀, 사탕 수수 등), 비트(사탕무 및 사료 사탕무), 과일류 (사과, 배, 자두, 복숭아, 아몬드, 체리, 딸기, 라스베리, 블랙 베리, 수박), 콩과 식물(콩, 렌즈 콩, 완두콩, 콩), 오일 식물(유채, 겨자, 양귀비, 올리브, 해바라기, 코코넛, 피마자 오일 플랜트, 코코아 콩, 땅콩 등), 오이 식물(오이, 참외, 멜론 등), 섬유 식물(면, 아마, 대마, 황마), 감귤류의 과일(귤, 오렌지, 레몬, 자몽 등), 야채(시금치, 상추, 아스파라거스, 양배추, 양파, 토마토, 감자, 파프리카, 호박 등), 녹나무과(아보카도, 당근, 계피, 녹나무), 활엽수와 침엽수(린든 - 트리, 주목 나무, 떡갈 나무, 오리 나무, 포플러, 자작 나무, 전나무, 낙엽송, 소나무), 옥수수, 담배, 견과류, 커피, 사탕 수수, 차, 덩굴, 흙, 바나나, 천연 고무와 같은 식물, 또는 관상용 식물의 전체 또는 일부일 수 있으나, 선충에 의해 뿌리혹이 야기되거나 변형 또는 식물의 성장 및 생육을 방해 받은 식물이라면 특별히 제한되지 않는다.

[0027] 본 발명의 균주는 살선충 관련 효소 활성은 단백질분해효소, 키틴분해효소, 젤라틴분해효소, 콜라겐분해효소 활성일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 본 발명의 일 구현예에서는, 신규한 버크홀데리아 속 JB-1 또는 JB-2 균주를 처리하여 선충의 표피 및 알의 주된 성분인 단백질 및 키틴에 대한 분해 여부를 비교하였으며, 그 결과 버크홀데리아 속 JB-1 및 JB-2 균주의 단백질 및 키틴에 대한 기질 특이적 효소 분해능을 관찰함으로써 JB-1 또는 JB-2 균주의 살선충 활성이 우수함을 확인하였다.

[0030] 본 발명의 용어, "식물 생장"은 식물의 씨앗을 받아하여 뿌리·줄기·잎을 내거나 또는 점차 크기와 무게를 더 해가는 과정을 의미하므로, "식물 생장 촉진"은 식물의 씨앗의 발아 또는 발아된 식물의 크기와 무게의 증가를 촉진하는 것을 의미한다. 본 발명의 균주는 살선충 활성뿐만 아니라, 식물의 생장을 촉진하는 활성을 보유하며, 효과적인 미생물 제제로 이용될 수 있다.

[0032] 본 발명의 다른 하나의 양태는 상기 균주, 상기 균주의 파쇄물, 상기 균주의 추출물, 상기 균주의 배양물, 상기 배양물의 농축액 및 상기 배양물의 건조물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 포함하는, 기생 선충 방제용 조성물을 제공한다.

[0034] 본 발명의 용어, "균주(strain)"은 한 개의 세포에서 유래한, 무성생식을 통해 증식하여 동질의 유전적 특징을 갖는 개체들의 집합을 의미하며, 하나의 종(species) 안에는 유전적 특징이 서로 다른 여러 개의 균주들(genetic variants)이 존재한다. 본 발명에서 균주는 버크홀데리아 속을 의미하며, 구체적으로 기탁번호 KCTC14975BP로 기탁된 버크홀데리아 JB-1 (*Burkholderia* JB-1) 또는 기탁번호 KCTC14976BP로 기탁된 버크홀데리아 JB-2 (*Burkholderia* JB-2)일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 구체적으로, 상기 균주는 서열번호 3 또는 4의 16s rRNA 서열을 포함하는 균주일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0035] 본 발명에서, 상기 균주는 버크홀데리아 속 균주의 균체, 건조된 균체, 파쇄물 등을 포함할 수 있다. 이 때, 상기 건조된 균체는 분무 건조균, 동결 건조균, 진공 건조균, 드럼 건조균 등의 건조균일 수 있고, 상기 파쇄물은 균주 자체를 화학적 또는 물리적 힘에 의하여 균주의 세포벽을 파쇄하여 얻은 산물일 수 있다.



- [0037] 본 발명의 용어, "추출물"은 본 발명에서 제공하는 균주를 추출 처리하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액의 회석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조정제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다. 상기 추출물을 얻는 추출 방법은 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출할 수 있다. 상기 추출 방법의 비제한적인 예로는, 열수 추출법, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추출법 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다. 상기 추출물을 얻는 데 사용되는 추출 용매의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 추출 용매의 비제한적인 예로는 물, 알코올, 에틸아세테이트 또는 이들의 혼합 용매 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 사용되거나 1종 이상 혼합하여 사용될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 일 구현예에서는, 본 발명의 버크홀데리아 속 JB-1, JB-2 균주와 버크홀데리아 속에 속하는 다른 22종 균주 및 살충제로 알려진 선충탄 (fosthiazate)의 뿌리혹선충에 대한 활성을 검정한 결과, 버크홀데리아 속 JB-1, JB-2는 다른 버크홀데리아 속 균주 대비 현저히 우수한 살선충 활성을 가지며, 양성대조균인 선충탄과 활성이 유사하거나 이보다 우수한 살선충 활성을 가지는 것을 확인하였다.
- [0040] 본 발명의 용어, "배양물"은 상기 균주를 배지에서 배양하여 수득한 산물을 의미한다. 그 예로 본 발명의 배양물은 버크홀데리아 속의 배양 배지에서 상기 균주를 수확한 후 남은 배지에 잔존한 성분을 포함할 수 있다.
- [0041] 상기 배양물은 상기 버크홀데리아 속 균주의 전체 배양물, 배양상등액, 과쇄물, 이들의 분획물 등이 될 수 있다. 이때, 상기 배양상등액은 상기 균주의 배양물을 원심분리하여 수득할 수 있고, 상기 과쇄물은 상기 균주를 물리적으로 또는 초음파처리하여 수득할 수 있으며, 상기 분획물은 상기 배양물, 배양상등액, 과쇄물 등을 원심분리, 크로마토그래피 등의 방법에 적용하여 수득할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 균주의 배양에 사용되는 배지 및 기타 배양 조건은 통상의 버크홀데리아 속 미생물의 배양에 사용되는 배지라면 특별한 제한 없이 어느 것이나 사용될 수 있으며, 구체적으로는 본 발명의 균주를 적당한 탄소원, 질소원, 인원, 무기화합물, 아미노산 및/또는 비타민 등을 함유한 통상의 배지 내에서 호기성 또는 혐기성 조건 하에서 온도, pH 등을 조절하면서 배양할 수 있다.
- [0043] 본 발명에서 상기 탄소원으로는 글루코오스, 프룩토오스, 수크로오스, 말토오스 등과 같은 탄수화물; 만니톨, 소르비톨 등과 같은 당 알코올, 피루브산, 락트산, 시트르산 등과 같은 유기산; 글루타메이트, 메티오닌, 라이신 등과 같은 아미노산 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 전분 가수분해물, 당밀, 블랙스트랩 당밀, 쌀겨울, 카사버, 사탕수수 찌꺼기 및 옥수수 침지액 같은 천연의 유기 영양원을 사용할 수 있으며, 글루코오스 및 살균된 전처리 당밀(즉, 환원당으로 전환된 당밀) 등과 같은 탄수화물이 사용될 수 있고, 그 외의 적정량의 탄소원을 제한 없이 다양하게 이용할 수 있다. 이들 탄소원은 단독으로 사용되거나 2종 이상이 조합되어 사용될 수 있다.
- [0044] 상기 질소원으로는 암모니아, 황산암모늄, 염화암모늄, 초산암모늄, 인산암모늄, 탄산암모늄, 질산암모늄 등과 같은 무기질소원; 아미노산, 펩톤, NZ-아민, 육류 추출물, 효모 추출물, 맥아 추출물, 옥수수 침지액, 카세인 가수분해물, 어류 또는 그의 분해생성물, 탈지 대두 케이크 또는 그의 분해 생성물 등과 같은 유기 질소원이 사용될 수 있다. 이들 질소원은 단독으로 사용되거나 2종 이상이 조합되어 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0045] 상기 인원으로는 인산 제1칼륨, 인산 제2칼륨, 또는 이에 대응되는 소듐-함유 염 등이 포함될 수 있다. 무기 화합물로는 염화나트륨, 염화칼슘, 염화철, 황산마그네슘, 황산철, 황산망간, 탄산칼슘 등이 사용될 수 있다.
- [0046] 그 외에 상기 배지에는 아미노산, 비타민 및/또는 적절한 전구체 등이 포함될 수 있다. 구체적으로, 상기 균주의 배양 배지에는 L-아미노산 등이 첨가될 수 있다. 구체적으로는 글리신(glycine), 글루타메이트(glutamate), 및/또는 시스테인(cysteine) 등이 첨가될 수 있고, 필요에 따라서는 라이신(lysine) 등의 L-아미노산 이 더 첨가될 수 있으나 반드시 이에 제한되지 않는다.
- [0047] 상기 배지 또는 전구체는 배양물에 회분식 또는 연속식으로 첨가될 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.
- [0048] 본 발명에서, 균주의 배양 중에 수산화암모늄, 수산화칼륨, 암모니아, 인산, 황산 등과 같은 화합물을 배양물에 적절한 방식으로 첨가하여, 배양물의 pH를 조절할 수 있다. 또한, 배양 중에는 지방산 폴리글리콜 에스테르와

같은 소포제를 사용하여 기포 생성을 억제할 수 있다. 또한, 배양물의 호기 상태를 유지하기 위하여, 배양물 내로 산소 또는 산소 함유 기체를 주입하거나 혐기 및 미호기 상태를 유지하기 위해 기체의 주입 없이 혹은 질소, 수소 또는 이산화탄소 가스를 주입할 수 있다.

[0049] 본 발명의 일 구현예에서는, 버크홀데리아 속 JB-1 또는 JB-2 균주 배양물을 식물에 처리한 후 식물 성장 및 난당 수를 조사한 결과, 무처리 및 선충탄을 처리한 식물 대비 식물의 지상부 길이, 지상부 및 뿌리 무게가 현저히 증가함을 확인하였고, 뿌리 무게 당 난당 수 또한 적게 나타남으로써, 버크홀데리아 속 JB-1 또는 JB-2 균주는 식물 생육 촉진 효과뿐만 아니라, 살선충 효과가 우수함을 확인하였다.

[0050] 또한, 버크홀데리아 속 JB-1 또는 JB-2 균주 배양물을 처리한 경우, 식물 방어 관련 유전자의 발현량이 현저히 증가하였고, 그 결과 살리실산, 자스몬산 관련된 방어 유전자 및 활성산소 관련 유전자가 활성화되었음을 확인하였다.

[0052] 본 발명의 용어, "기생 선충 방제"는 기생하는 선충의 성장을 억제하거나, 죽이는 일로서, 살선충 활성을 의미한다.

[0053] 상기 "살선충 활성"은 전술한 바와 같다.

[0055] 본 발명의 다른 하나의 양태는 상기 기생 선충 방제용 조성물을 식물체 또는 기생 선충에 처리하는 단계를 포함하는 기생 선충 방제 방법을 제공한다.

[0056] 상기 "버크홀데리아", "기생 선충 방제" 및 "살선충 활성"은 전술한 바와 같다.

[0058] 본 발명의 다른 하나의 양태는 균주, 상기 균주의 파쇄물, 상기 균주의 추출물, 상기 균주의 배양물, 상기 배양물의 농축액 및 상기 배양물의 건조물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 유효성분으로 포함하는, 식물 성장 촉진용 조성물을 제공한다.

[0059] 상기 "버크홀데리아", "균주", "파쇄물", "추출물", "배양물" 및 "식물 성장 촉진"은 전술한 바와 같다.

[0061] 본 발명의 기생 선충 방제 방법 또는 식물 성장 촉진 방법은 기생 선충 방제용 조성물, 식물 성장 촉진용 조성물 또는 미생물 제제를 식물의 종자, 잎, 줄기, 뿌리 또는 이에 근접한 토양에 직접 살포하거나 침지시키는 것일 수 있으며, 상기 기생 선충 방제용 조성물, 식물 성장 촉진용 조성물 또는 미생물 제제를 희석한 용액을 식물체 또는 이에 근접한 토양에 직접 살포하거나, 침지시킬 수 있으나, 이에 제한 되지 않는다.

[0063] 본 발명의 다른 하나의 양태는 기생 선충 방제용 조성물 또는 식물 성장 촉진용 미생물제제를 제공한다.

[0064] 상기 "기생 선충 방제", "식물 성장 촉진"은 전술한 바와 같다.

[0066] 본 발명의 용어, "미생물 제제"는 미생물 자체를 직접 이용하거나 미생물을 포함한 제제를 이용하여 농작물에 피해를 주는 곤충, 응애, 선충 등의 해충과 각종 식물 병원균 또는 잡초를 효과적으로 방제하는데 쓰이는 생물 제제를 의미한다.

[0067] 상기 기생 선충 방제용 조성물, 식물 성장 촉진용 조성물 또는 미생물 제제는 농약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 및/또는 첨가제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 부형제는 농업 분야에서 통상적으로 사용되고 있는 것으로, 예를 들면, 규조토, 소석회 등의 산화물, 인회석 등의 인산염, 석고 등의 황산염, 클레이, 카올린, 벤토나이트, 산성백토, 석영, 실리카 등의 광물질 분말 등의 고체 담체와 충전제, 향응집제, 계면활성제, 유화제, 방부제, 가스제, 착색제, 증백제, 분산제, 유동화제 등을 추가하여 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물 또는 제제를 식물에 처리하여 활성성분이 신속방출, 서방출, 지연된 방출할 수 있도록 당업계에서 공지된 방법을 사용하여 제형화할 수 있다. 제형화를 위해서는 통상적으로 사용하는 계면활성제, 희석제, 분산제, 보조제 등의 첨가제를 활성성분과 배합하여 수화제, 현탁제, 유제, 유탁제, 미탁제, 액제, 분산성 액제, 입상수화제, 입제,



분제, 액상수화제, 수면부상성입제, 정제, 혼중제, 도포제 등 각종 형태로 제제화하여 사용할 수 있다. 본 발명의 조성물을 제제화할 경우 사용 시기는 선충 발생 시 상시적으로 사용할 수 있으나, 사용 기간, 횟수 및 시기는 특별히 제한되지 않는다.

[0068] 또한, 본 발명의 조성물은 그 자체, 상기 제제 형태 또는 이들 제제를 추가로 희석하여 제조될 수 있는 사용형태로 사용할 수 있으며, 붓기, 분무, 연무(atomizing), 산포 또는 뿌리기(broadcasting)와 같은 통상적인 방법에 의해 사용될 수 있다.

[0069] 본 발명의 기생 선충 방제용 조성물, 식물 생장 촉진용 조성물 또는 미생물 제제는 공지된 다른 살선충제와 혼합하여 사용할 수 있다. 즉석 믹스(ready mix)의 형태로 사용할 수 있으며, 또는 살선충 활성 혼합물이 사용 시에 혼합되는 탱크 믹스와 같은 개별 제제 형태로 사용될 수 있다. 살진균제, 살충제, 살비제, 조류 기피제, 성장 물질, 식물 영양제, 및 토양 컨디셔너와 같은 다른 공지된 활성 혼합물과의 혼합도 가능하다. 특정 적용 목적을 위해, 특히 발아 후 방법에 적용되는 경우, 제제 중의 추가의 첨가제로서 식물-내약성 광유 또는 식물유(예를 들어, 시판 제품 "Rako Binol" 또는 암모늄염, 예를 들면 황산암모늄 또는 티오황산암모늄을 함침시킬 수 있다.

[0070] 본 발명의 기생 선충 방제용 조성물, 식물 생장 촉진용 조성물 또는 미생물 제제는 살선충 유효량의 화합물 및 식물 생장 촉진제를 포함할 수 있으며, 상기 용어, "유효량"은 재배 식물 상에서 유충을 방제하는데 충분하거나 물질의 보호에 충분하고, 처리된 식물에 실질적인 손상을 초래하지 않는 조성물 또는 화합물의 양을 의미한다.

[0071] 본 발명의 살선충 유효량은 농약 제제당 사용량의 0.01 내지 100(mg/kg)일 수 있으나, 방제할 선충 종, 처리된 재배 식물 또는 물질, 기후 조건 및 사용되는 특정 화합물 등 다양한 요인들을 고려하여 유효량이 결정되는 것이므로, 이러한 점을 고려할 때 당분야의 통상적인 지식을 가진 자라면 상기 본 발명의 특정한 용도에 따른 적절한 유효량을 결정할 수 있을 것이다.

### 발명의 효과

[0073] 본 발명의 버크홀데리아 JB-1 균주 또는 JB-2 균주, 상기 균주의 파쇄물, 상기 균주의 추출물, 상기 균주의 배양물, 상기 배양물의 농축액 및 상기 배양물의 건조물은 우수한 살선충 활성 및 식물의 생육 촉진 활성을 가지므로, 살선충 미생물 방제제에 대한 개발 및 생산에 있어 유용하게 활용되어, 친환경 농업의 구현뿐만 아니라, 농작물의 농약 잔류 및 토양 오염을 경감시켜 환경 보전에 기여할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0075] 도 1는 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주의 16s rRNA 염기서열을 버크홀데리아 속 공시 균주와 비교하여 계통발생학적 모식도로 나타낸 결과이다.

도 2은 토양에서 분리된 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주의 키틴 및 단백질 분해 활성을 나타낸 결과이다.

도 3은 다양한 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) 균주 배양 추출물의 뿌리혹선충(*Meloidogyne hispanica*)에 대한 살선충 활성을 평가한 결과이다.

도 4는 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주 배양 추출물의 자바니카 뿌리혹선충, 땅콩 뿌리혹선충, 고구마 뿌리혹선충, 당근 뿌리혹선충에 대한 살선충 활성을 평가한 결과이다.

도 5는 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주 배양 추출물의 뿌리혹선충 외에 다른 기생 선충에 대한 살선충 활성을 평가한 결과이다.

도 6은 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 포트 활성 (pot-test) 결과이다.

도 7은 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 식물 방어 관련 유전자량 변화를 측정 한 결과이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0076] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0078] **실시예 1. 토양으로부터 미생물 분리 및 동정**

[0080] 전북 진안군 주천면 가마봉(35.980645, 127.406836)의 밭 토양 및 산림 토양에서 토양시료를 채취하였다. 채취한 토양을 대상으로 미생물을 분리하기 위하여 토양시료의 2배량의 Phosphate buffered saline(PBS, 0.8% NaCl, 0.02% KCl, 0.144% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; pH 7.4)를 넣고 1분 동안 균질화하여 원심분리 후 상층액을 분취하였다. 그 후 단계적으로 희석하여 감자 텍스트로스 고체 배지 (PDA; 4% potato starch, 20% dextrose, 15% agar)에 도말하여 30℃에서 2일간 배양 후 성장한 박테리아를 분리하였다. 분리한 박테리아는 그람 음성의 간균 형태이며 원형과 흰색 집락을 형성하였다.

[0081] 박테리아의 동정을 위해 16s rRNA 유전자 염기서열 분석을 수행하였다. 구체적으로, 균주의 16s rRNA 유전자의 염기서열을 얻기 위하여 Qiagen사의 DNeasy Blood & Tissue kit을 이용하여 genomic DNA를 분리 하였고 이를 템플레이트로 사용하여 27F (서열번호 1), 1492R 프라이머 (서열번호 2)와 함께 PCR을 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 정제 후 (주)마크로젠에 의뢰하여 서열을 분석하였다. 염기서열은 NCBI의 BLAST을 이용하여 GenBank 데이터베이스의 염기서열과 비교하였다.

[0082] 그 결과, 버크홀데리아 속 (Burkholderia sp.) JB-1 균주는 Burkholderia contaminans J2956 과 99.50% 유사도를 보였고, 상기 분리된 균주를 버크홀데리아 속 (Burkholderia sp.) JB-1로 명명하였다 (서열번호 3). 버크홀데리아 속 (Burkholderia sp.) JB-2 균주는 Burkholderia alba AD18 과 98.96% 유사도를 보여, 이에 따라 분리된 균주를 버크홀데리아 속 (Burkholderia sp.) JB-2로 명명하였다 (서열번호 4). 상기 JB-1 및 JB-2 균주는 한국생명공학연구원 에 2022년 05월 17일자로 기탁하였다(수탁번호: KCTC14976BP, KCTC14976BP) (도 1).

[0084] **실시예 2. 버크홀데리아 속 (Burkholderia sp.) JB-1 및 JB-2 균주의 살선충 관련 효소 활성 비교**

[0086] 선충의 표피 및 알의 주된 성분인 단백질 및 키틴에 대한 버크홀데리아 속 (Burkholderia sp.) JB-1 및 JB-2 균주의 분해 활성을 확인하기 위하여, 각 효소와 반응할 기질을 함유하고 있는 고체 선별배지를 사용하였다.

[0087] 키틴 분해 활성은 2% Colloidal chitin, 단백질 분해 활성은 2% 스킴 밀크(skim milk)를 각각 R2A 배지(R2A; 0.05% Proteose peptone, 0.05% Casamino acids, 0.05% Yeast extract, 0.05% Dextrose, 0.05% Soluble starch, 0.03% Dipotassium phosphate, 0.005% Magnesium sulfate, 0.03% Sodium pyruvate, 1.5% Agar)에 첨가하여 선별배지를 제조하였다. 각 선별배지에 선발한 균주를 접종하여 30℃에서 48시간 동안 배양한 후 투명환 형성 유무에 따라 기질 특이적 효소 분해능 여부를 확인하였다.

[0088] 그 결과, 두 종의 버크홀데리아 균주 접종 시 2종의 기질에 대하여 모두 투명환이 선명하게 형성됨으로써 살선충 활성이 우수한 것을 확인하였다 (도 2).

[0090] **실시예 3. 버크홀데리아 속 (Burkholderia sp.) JB-1 및 JB-2 균주 추출물의 뿌리혹선충에 대한 활성 검정**

[0092] **실시예 3-1. 버크홀데리아 속 균주 추출물의 뿌리혹선충에 대한 활성 검정**

[0093] 뿌리혹선충(*Meloidogyne hispanica*)이 감염된 토양시료 300g을 약 5 리터의 물에 넣고 섞어 만든 흙탕물을 250 μm 구멍 크기의 채로 거른 다음, 얻어진 흙탕물을 45μm 구멍 크기의 채로 걸러 선충을 모았다. 채에 걸린 선충을 물로 회수하고, 회수한 선충이 포함된 약간의 흙탕물을 킴와이프(Kimwipe)를 깔은 채에 붓고 적당량의 물을 채워 24시간 동안 정지한 후, 채를 통과한 물에 모여있는 선충을 다시 45μm 구멍 크기의 채로 걸러 회수하여 살

선충 활성 조사에 이용하였다.

[0094] JB-1 및 JB-2를 포함한 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) 균주를 각각 LB 액체 배지(10% Yeast extract, 5% Tryptone, 10% Sodium chloride)에 접종하고 30°C에서 180 rpm으로 48시간 배양 후 원심 분리하였다. 수득한 상층액을 동량의 에틸 아세테이트로 추출하여 감압 농축하고 이를 메탄올로 용해하였다.

[0095] 96well-plate에 상기 회수한 뿌리혹선충 (*Meloidogyne hispanica*)을 95 $\mu$ l 처리하고, 이에 버크홀데리아 속 균주 추출물을 0.5 mg/mL 농도가 되도록 처리 하였다. 대조군으로는 선충탄(5% fosthiazate) 희석액을 처리해주었으며, 무처리군으로 메탄올을 처리하여 총 볼륨을 100  $\mu$ l 로 맞춰주었다. 25°C에서 보관하여 48시간 이후 Abbott's formula를 활용하여 살선충율을 조사하였다.

[0096]

[0097]  $\text{살선충율(\%)} = (\text{처리구의 사망률} - \text{무처리구의 사망률}) / 100 - \text{무처리구 사망률} \times 100$

[0099] 그 결과, 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주는 버크홀데리아 속의 다른 균주보다 약 10% 내지 약 85%이상의 우수한 살선충 활성을 가지는 것을 확인하였으며, 살선충제인 선충탄과 유사하거나, 이보다 약 10%이상 높은 살선충 활성을 가지는 것을 확인하였다 (도 3).

[0101] **실시예 3-2. 버크홀데리아 속 JB-1 및 JB-2 균주 추출물의 뿌리혹선충에 대한 활성 검정**

[0102] 실시예 3-1.에서 실시한 실험방법과 동일 방법으로, 자바니카 뿌리혹선충 (*Meloidogyne javanica*), 땅콩 뿌리혹선충 (*Meloidogyne arenaria*), 고구마 뿌리혹선충 (*Meloidogyne incognita*), 당근 뿌리혹선충 (*Meloidogyne hapla*)을 회수하여, 실시예 3-1.에서 가장 효과가 좋았던 버크홀데리아 속 JB-1 및 JB-2 균주 추출물의 살선충 활성(살선충율)을 비교하였다.

[0103] 그 결과, *Meloidogyne hispanica* 외에 자바니카 뿌리혹선충, 땅콩 뿌리혹선충, 고구마 뿌리혹선충, 당근 뿌리혹선충과 같은 일반적인 뿌리혹선충에 대하여도 버크홀데리아 속 JB-1 및 JB-2 균주 추출물은 대조군과 유사하거나, 이보다 우수한 살선충 활성을 가지는 것을 확인하였다 (도 4).

[0105] **실시예 3-3. 버크홀데리아 속 JB-1 및 JB-2 균주 추출물 다양한 기생 선충에 대한 활성 검정**

[0106] 실시예 3-1.에서 실시한 실험방법과 동일 방법으로, 뿌리혹선충 외에 주요 식물 기생 선충인 줄기선충류, 잎선충류, 씨스트선충류에 대한 버크홀데리아 속 JB-1 및 JB-2 균주 추출물의 살선충 활성(살선충율)을 비교하기 위하여, 대표적으로, *Meloidogyne hispanica*, *Ditylenchus destructor*(줄기선충), *Aphelenchoides subtenuis*(잎선충), *Heterodera trifolii*(씨스트선충)을 선정하였다.

[0107] 그 결과, 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주 추출물은 0.5 mg/mL의 농도에서 *Meloidogyne hispanica*에서는 69.5 % 및 79.0 %, *Ditylenchus destructor*(줄기선충)에서는 84.2 % 및 91.3 %, *Aphelenchoides subtenuis*(잎선충)에서는 79.8 % 및 90.2 %, *Heterodera trifolii*(씨스트선충)에서는 61.9 % 및 74.0 %의 살선충 효율을 보여 뿌리혹선충 외에 주요 식물 기생 선충에 대해서도 우수한 살선충 활성을 가지는 것을 확인하였다 (도 5).

[0109] **실시예 4. 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 활성 검정**

[0111] **실시예 4-1. 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 포트 활성(pot-test) 검정**

[0112] 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1, JB-2 균주 배양물에 대한 뿌리혹선충의 방제 효과를 in vivo 수준에서 확인 평가하고자 하기와 같은 방법으로 포트 활성을 검정하였다.

[0113] 뿌리혹선충 포트 실험은 부산대학교 밀양캠퍼스 첨단온실에서 실시하였다. 500g의 뿌리혹선충이 감염된 토양에 상기 균주를 LB 액체 배지에서 접종하고 30°C에서 180 rpm으로 48시간 배양 후 오토클레이브에서 121°C 15분간

멸균시킨 배양물 50mL를 처리 후 잘 섞어주었다. 대조구로는 선충탄(5% fosthiazate) 희석액 또는 버크홀데리아 리노젠시스(*Burkholderia rinojensis*) 배양물을 처리하였다. 그 후 7일 후 3주간 재배한 Rutgers 품종의 토마토를 모종해주었다. 45일 이후 토마토의 뿌리를 수돗물로 깨끗이 씻은 후 난당 수 및 식물 성장을 조사하였다.

[0114] 그 결과, JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 처리구에서 대조구보다 지상부 길이가 현저히 증가함을 확인하였으며(도 6A, 6B, 6C), 지상부 무게는 무처리 대비 약 3.6-7.6배 증가, 선충탄 처리구 대비 약 1.8-3.8배 증가, B. rinojensis 처리구 대비 약 4.5-9.5배 증가하였고, 뿌리 무게 또한 무처리, 선충탄 처리구, 및 B. rinojensis 처리구 대비 증가하여, JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 증가 작물 생육 촉진 효과를 확인하였다 (도 6D).

[0115] 또한, 뿌리 무게 당 난당 수의 경우, JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 처리구가 무처리 및 B. rinojensis 처리구보다 적게 나타났으며, 양성대조구인 선충탄과 유사한 수준인 것을 확인함으로써, JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 뿌리혹선충 억제에 효과가 있음을 확인하였다 (도 6E).

[0117] **실시예 4-2. 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1 및 JB-2 균주 배양물의 식물 방어 관련 유전자량 측정**

[0118] 실시예 4-1.의 버크홀데리아 속 (*Burkholderia* sp.) JB-1, JB-2 균주 배양물을 처리한 Rutgers 품종의 토마토의 뿌리를 채취하여 액체질소에 넣어 동결시켰다. 동결된 뿌리를 곱게 갈아준 후 QIAGEN사의 RNeasy Plant Mini Kit를 사용하여 mRNA를 추출하였으며, Thermo사의 High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit를 사용하여 추출한 mRNA를 cDNA로 역전사하였다. 그 다음, 식물의 방어 관련 유전자의 Primer인 SIPR1, SILOX1, SpWRKY1, CDPK15, RbohB와 Thermo사의 SYBR Green Master Mix™를 사용하여 qPCR을 진행하였고, 비교 Ct $\Delta\Delta$ Ct 방법을 사용하여 유전자 발현의 배수 변화를 계산하였다.

[0119] 그 결과, JB-1, JB-2 균주 배양물을 처리시 식물의 방어 관련 유전자인 SIPR1, SILOX1 유전자 발현량이 무처리 대비 증가함을 확인하였으며, 이를 통해 살리실산(SA) 및 자스몬산(JA) 관련된 방어 유전자가 활성화되었음을 알 수 있었으며, SpWRKY1, CDPK15, RbohB 유전자 발현량이 무처리 대비 증가함을 확인하였고, 이를 통해 활성산소(ROS) 관련 유전자가 활성화되었음을 알 수 있었다.

[0120] 상기와 같이, JB-1, JB-2 균주 배양물을 식물에 처리한 경우, 무처리군에 비해 식물 방어 관련 유전자가 높게 발현되어 선충에 대한 식물 방어를 유도하였음을 알 수 있었고, JB-1, JB-2 균주 배양물은 살선충 활성뿐만 아니라 식물에도 작용하여 선충 방제에 대한 도움이 될 수 있음을 확인하였다 (도 7).

[0122] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

**수탁번호**

[0123]

기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC14975BP

수탁일자 : 20220517

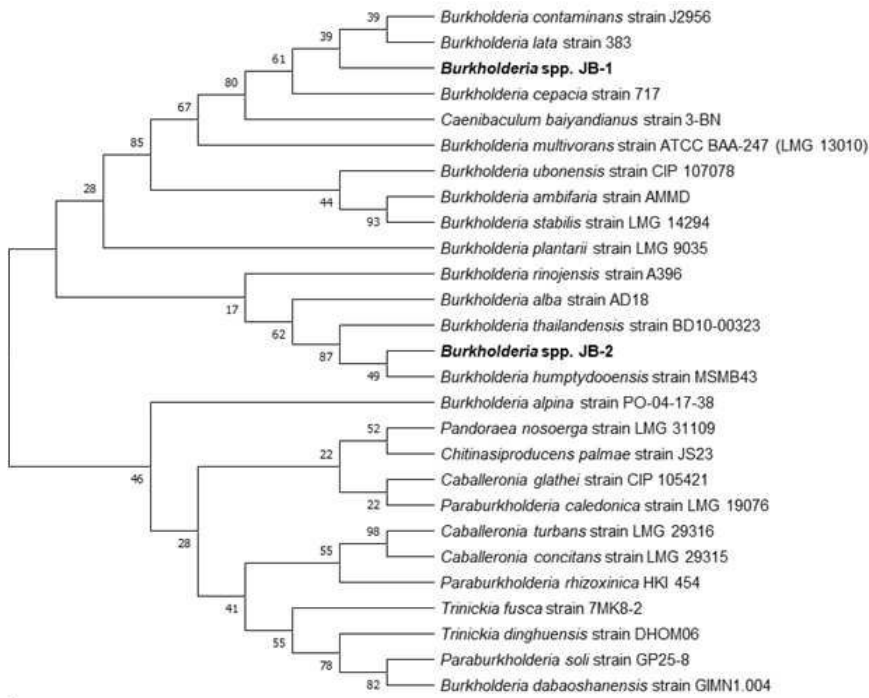
기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC14976BP

수탁일자 : 20220517

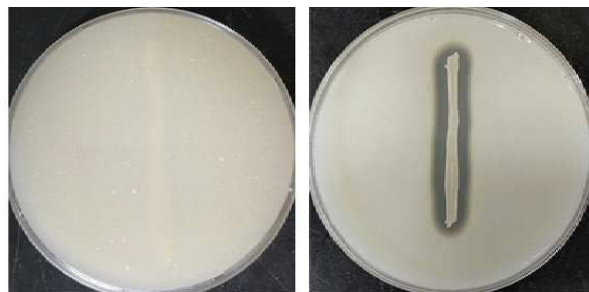
도면

도면1



도면2

*Burkholderia* sp. JB-1



*Burkholderia* sp. JB-2

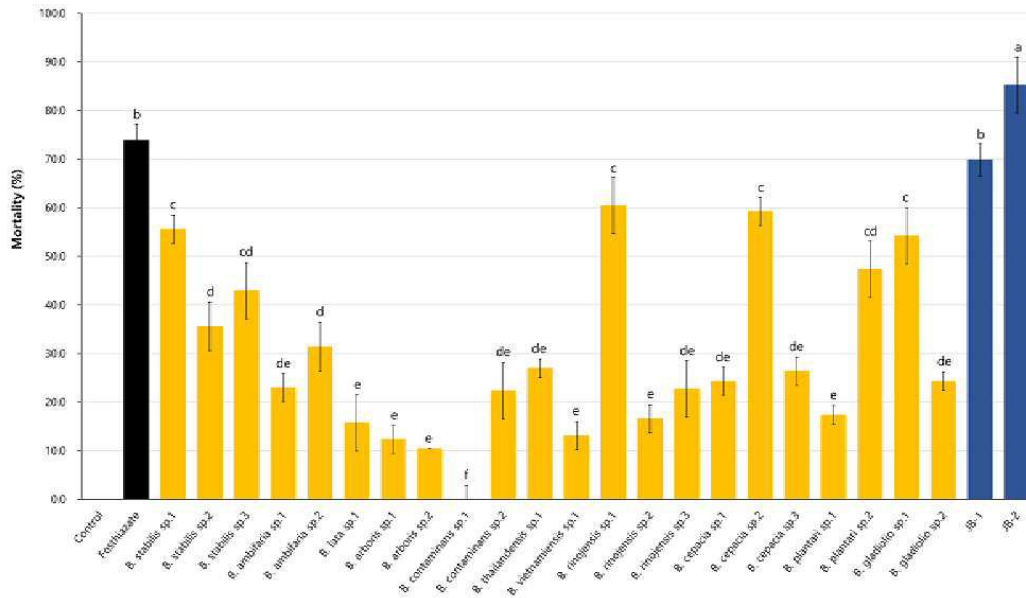


키티 분해 활성 배지

단백질 분해 활성 배지

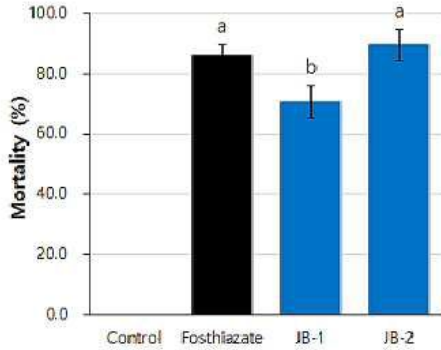


도면3

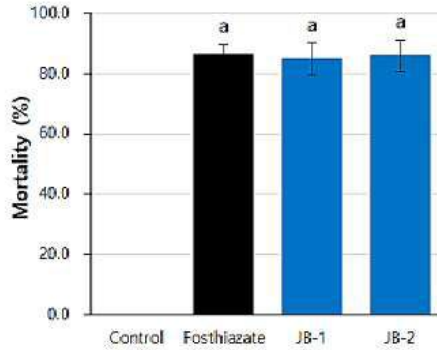


도면4

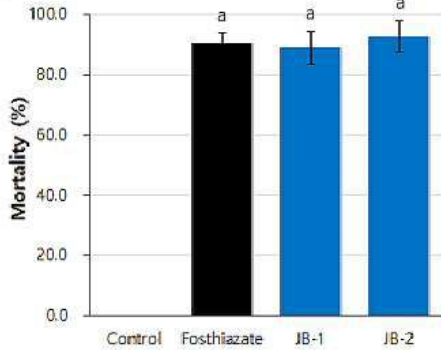
*Meloidogyne javanica* (자비니카 뿌리혹선충)



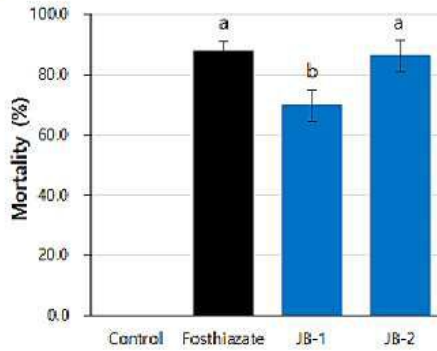
*Meloidogyne arenaria* (땅콩 뿌리혹선충)



*Meloidogyne incognita* (고구마 뿌리혹선충)

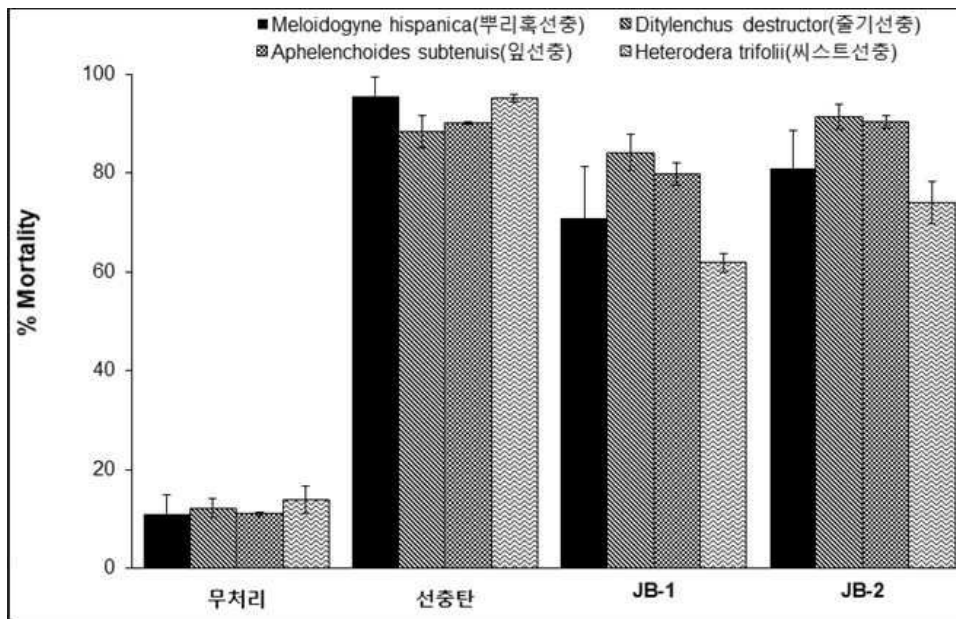


*Meloidogyne hapla* (당근 뿌리혹선충)

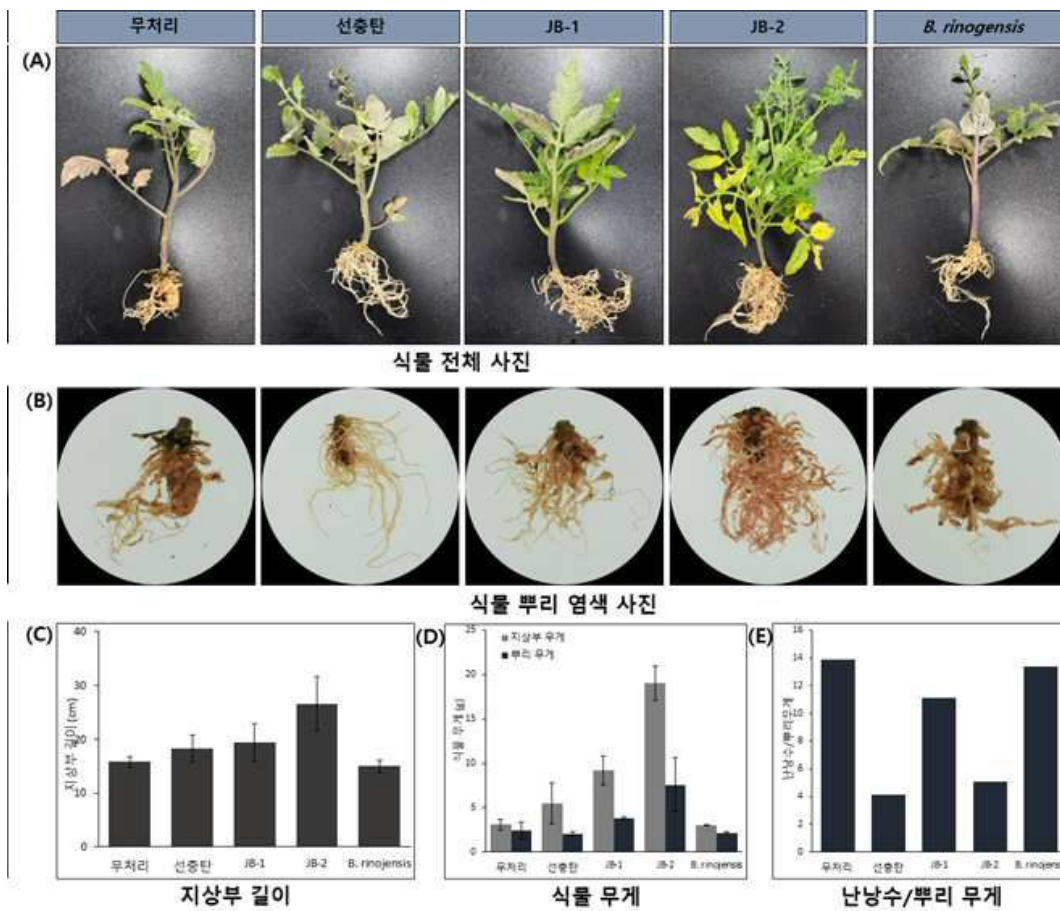




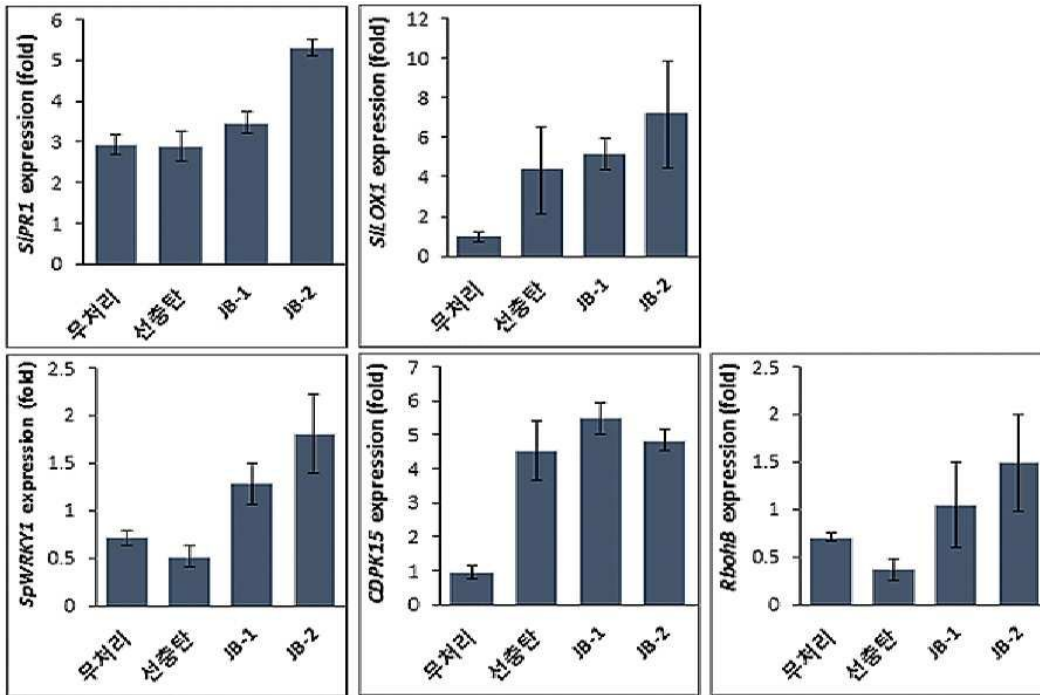
도면5



도면6



도면7



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.